

**Vergleichende Untersuchungen zur
Brauchbarkeit eines „Patent-Blau-VF“ für
den Spreading-Test beim Menschen am
Beispiel der spreadinghemmenden
Wirkung des Histamins**

Waltraud Endeke

1961



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555220_0077

**Vergleichende Untersuchungen zur
Brauchbarkeit eines „Patent-Blau-VF“ für
den Spreading-Test beim Menschen am
Beispiel der spreadinghemmenden
Wirkung des Histamins**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Waltraud Ende
aus Neukirch

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:

Professor Dr. W. SEITZ

Dekan:

Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.1961



MEINEN LIEBEN ELTERN GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Problematik	7
Eigene Versuche	
Versuchsreihe I: Methodik	8
Versuchsergebnisse	9
Versuchsreihe II: Methodik	9
Versuchsergebnisse	9
Bestimmung der Verweildauer des Farbstoffes in der menschlichen Haut	9
Statistische Auswertung	10
Diskussion	13
Zusammenfassung	14
Tabellenanhang	15
Literaturverzeichnis	22

PROBLEMATIK

Für ihre tierexperimentellen Untersuchungen über die Wirkungsweise in vivo hyaluronidasehemmender Substanzen haben sich MATHIES und Mitarbeiter (1-11) des Spreading-Testes bedient und als Farbstofflösung eine 0,6%ige Evansblaulösung angewandt. Vor und zu verschiedenen Zeiten nach Applikation der zu untersuchenden hyaluronidasehemmenden Stoffe wurde je eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel intracutan in die enthaarte Bauchhaut männlicher weisser Ratten gesetzt. Dabei wurde die Farbstoff-Quaddel mit 0,1 ccm der 0,6%igen Evansblaulösung und die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel mit 0,1 ccm der gleichen Farbstofflösung, in der 75 IE pro ccm einer hochgereinigten Testes-Hyaluronidase gelöst waren, injiziert. Jeweils 10 Minuten nach Setzen der Quaddel wurde die Ausbreitung des Farbstoffleckes durch Übertragen der Konturen auf einen Zelluloidstreifen und anschliessende planimetrische Ausmessung bestimmt. Aus dem Grössenverhältnis der durch die geprüften Substanzen beeinflussten Farbstoffausbreitung gegenüber dem Leerwert wurde die Beeinflussung des Hyaluronidase-Spreadings ermittelt. Durch Vergleiche mit den Farbstoff-Quaddeln ohne Hyaluronidasebeigabe war es möglich, einen etwaigen hyaluronidaseunspezifischen permeabilitätshemmenden Effekt festzustellen, der in manchen Versuchen auch statistisch deutlich war. Auch wurde hierbei die Beeinflussung der natürlichen Gewebshyaluronidase diskutiert.

Nach MADINAVEITIA (12) verläuft das Spreading zweiphasisch, wobei nur die erste innerhalb 10 Minuten ablaufende Reaktion als Effekt der Hyaluronidase zu werten ist. Zu späteren Zeitpunkten dürften Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen. Deshalb wurde die Ausbreitung der Farbstoffflecken jeweils nach 10 Min. festgestellt und gewertet.

MATHIES und VOGEL (13) bzw. MATHIES und WEISS (14) haben die gleiche Versuchsanordnung auch beim Menschen angewandt. Es stellte sich hierbei als störend heraus, dass das Evansblau sehr langsam aus der Haut wieder verschwindet. Der Farbstoff wird praktisch nicht resorbiert und erst mit der natürlichen Regeneration und Abschilferung der Haut eliminiert. Deshalb kann der Farbstoff oft noch monatelang in der Haut sichtbar sein.

Auf der Suche nach einem für Menschenversuche geeigneteren Farbstoff hat WEISS (15) das Prontosil verwendet. In diesen Versuchen stellte es sich heraus, dass die Ausbreitungsdifferenz zwischen reiner Farbstoff-Quaddel und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel so gering war, dass ein hemmender Einfluss des Prontosils auf die Hyaluronidase angenommen werden musste.

Auch gereinigtes Rinder-Hämoglobin erwies sich als ungeeignet, da die Farbwirkung des Hämoglobins zu schwach war. Ausserdem wurde auf die Gefahr der Unverträglichkeit infolge der Zufuhr körperfremden Eiweisses aufmerksam gemacht.

Auf die gelegentlich empfohlene Anwendung von hämolysiertem Eigenblut hat WEISS 15) verzichtet, da die Einstellung auf eine jeweils gleiche Farbintensität Schwierigkeiten bereitete und eine zeitlich grosse Beanspruchung der Versuchspersonen nicht tragbar erschien.

WEISS und VOGEL 13) haben deshalb zunächst ihre Versuche mit der in Tierversuchen bewährten Evansblaulösung durchgeführt.

In der vorgelegten Arbeit sollte ein neuer Farbstoff (Patentblau VF der Fa. Hoechst) hinsichtlich der Verträglichkeit, der Elimination aus der Haut und der Brauchbarkeit für die Bestimmung des Hyaluronidase-Spreadings untersucht werden. Es waren demnach Vergleichsuntersuchungen zwischen der Evansblaulösung und der Patentblaulösung durchzuführen. Hierbei sollte die Flächenausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel und der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel bei Anwendung beider Farbstoffe miteinander verglichen werden.

Ausserdem war an einem Beispiel die in Tierversuchen bereits nachgewiesene hyaluronidasehemmende Wirkung eines entsprechend wirksamen Stoffes beim Menschen mit der neuen Farbstofflösung zu reproduzieren.

EIGENE VERSUCHE

VERSUCHSREIHE I: (Vergleich zwischen Evansblau- und Patentblaulösung)

Methodik

Es wurden bei 6 klinisch gesunden Versuchspersonen je 4 Evansblau- und Evansblau+Hyaluronidase-, Patentblau- und Patentblau+Hyaluronidase-Quaddeln intracutan in die Bauchhaut unterhalb des Nabels gesetzt. Die Evansblau-Quaddeln wurden mit 0,1 ccm einer 0,6‰igen Evansblaulösung, die Patentblau-Quaddeln mit ebenfalls 0,1 ccm einer 0,1 ‰igen Patentblaulösung mit einer 18er Kanüle unter Verwendung einer Tuberkulinspritze gesetzt. Wegen der geringeren Farbintensität des Patentblaus war die höhere Konzentration gegenüber dem Evansblau erforderlich. Um einen Rückfluss der Farbstofflösungen zu vermeiden, war ein genügend weites Vorschieben der Kanüle intracutan erforderlich. Mit Hilfe der verwendeten Tuberkulinspritzen war wie bei den Versuchen von WEISS und VOGEL 15) eine hinreichend genaue Dosierung möglich. Zur Injektion der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln werden in 1 ccm beider Farbstofflösungen 75 IE einer hochgereinigten Testes-Hyaluronidase (Schering) gelöst, so dass bei Injektion von 0,1 ccm jeweils 7,5 IE zur Wirkung kamen. Die nach 10 Minuten erreichte Flächenausbreitung der Farbstoffflecken eines jeden Quaddeltypus wurde durch Markierung der Konturen mittels Kugelschreiber, Übertragung auf einen abgewaschenen Röntgenfilm durch Einritzen mit einer Nadel und anschliessende planimetrische Ausmessung bestimmt. Es wurde eine 4malige planimetrische Bestimmung vorgenommen, aus der die Mittelwerte verwendet wurden.

- n : Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
 SAQ : Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
 MAQ : Mittleres-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
 $F_{emp.}$: Varianz-Quotient zwischen 2 Varianz-Komponenten;
 p : Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{emp.}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Als erste Frage war zu prüfen, ob die Wechselwirkung Farbstoff - Probanden grösser ist als der experimentelle Fehler, d.h., ob die biologische Variabilität in der Reaktion der Probanden auf die beiden Farbstoffe wesentlich grösser ist als der methodische Fehler. Der hierzu gebildete Varianz-Quotient zwischen den Varianz-Komponenten Farbstoff - Probanden und Bestimmungsfehler zeigt, dass dies tatsächlich der Fall ist. Dies bedeutet, dass innerhalb des gleichen Quaddeltypus der Unterschied in der Ausbreitung der beiden Farbstoffe wesentlich von dem jeweiligen Probanden abhängt, an dem der Vergleich durchgeführt worden ist.

Bei der Prüfung der Frage, ob zwischen den Diffusionsgeschwindigkeiten der beiden Farbstoffe statistisch gesicherte Unterschiede vorliegen, musste das soeben besprochene Ergebnis berücksichtigt werden. Dies bedeutet, dass nur solche Unterschiede in den Diffusionsgeschwindigkeiten als statistisch gesichert gelten können, die nicht mehr als Folge der biologischen Variabilität in der Reaktion der Probanden angesehen werden können. Es wurde daher für jeden Quaddeltypus einzeln geprüft, ob die Varianz-Komponente, die zu den Unterschieden zwischen den beiden Farbstoffen gehört, statistisch gesichert grösser ist als die Wechselwirkung Farbstoff - Probanden. Die Grösse der zugehörigen Varianz-Quotienten zeigt, dass dies für keinen der beiden Quaddel-Typen der Fall ist. Dies bedeutet, dass die Unterschiede in den Ausbreitungsgeschwindigkeiten der beiden Farbstoffe durchaus noch als Folge der biologischen Variabilität in der Reaktion der Probanden erklärt werden kann. Es sollte jedoch nicht übersehen werden, dass bei der geringen Anzahl von Probanden, die zu diesem Versuch herangezogen wurden und der verhältnismässig grossen Wechselwirkung Farbstoff - Probanden nur sehr grosse Unterschiede hätten statistisch gesichert werden können. Es ist immerhin bemerkenswert, dass bei der Farbstoff+Hyase-Quaddel bei der Anwendung von Patentblau die Quaddeln systematisch grösser werden als bei der Anwendung von Evansblau. Bei den reinen Farbstoff-Quaddeln dagegen sind teilweise diejenigen mit Evansblau, teilweise diejenigen mit Patentblau grösser. Im Mittel sind jedoch auch bei den reinen Farbstoff-Quaddeln diejenigen mit Patentblau grösser als diejenigen mit Evansblau.

Zusammenfassend kann das Ergebnis des Versuches dahingehend interpretiert werden, dass zwar keine statistisch gesicherten Unterschiede in der Ausbreitungsgeschwindigkeit der beiden Farbstoffe vorliegen, dass aber das Gesamtergebnis darauf hinweist, dass die Ausbreitungsgeschwindigkeit der mit Patentblau durchgeführten Quaddeln etwas grösser ist als diejenige der mit Evansblau durchgeführten Quaddeln. Da dieser Effekt nicht gleichmässig ist, insbesondere da dieser Effekt bei der

reinen Farbstoff-Quaddel nicht systematisch ist, können bei dem Vergleich von Versuchen, die einerseits mit Evansblau, andererseits mit Patentblau durchgeführt wurden, gewisse Divergenzen auftreten. Nach den Ergebnissen des vorliegenden Versuches können diese jedoch nie grösser sein, als diejenigen Schwankungen, die bereits als Folge der biologischen Variabilität zwischen den Versuchsteilnehmern zu erwarten sind.

VERSUCHSREIHE II:

In den statistisch ausgewerteten Ergebnissen der Versuchsreihe II sollte geprüft werden, in welcher Weise Histamin beim Menschen die Diffusionsgeschwindigkeit einer reinen Farbstoff- bzw. einer Farbstoff+Hyase-Quaddel beeinflusst. Als Farbstoff wurde bei diesen Versuchen Patentblau verwendet. Zu diesen Versuchen wurden 5 Versuchsteilnehmer herangezogen, denen zunächst je eine reine Farbstoff-Quaddel und eine Farbstoff+Hyase-Quaddel gesetzt wurde. Nach Applikation von Histamin bei den Probanden wurden weitere Quaddeln zu den Zeitpunkten 0', 20', 40', 60', 80', 100' nach der Gabe von Histamin gesetzt und zwar wiederum je eine reine Farbstoff-Quaddel und eine Farbstoff+Hyase-Quaddel. 10 Minuten nach dem Setzen der Quaddeln wurde jeweils die Fläche dieser Quaddeln bestimmt und diese Fläche als Mass für die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln angesehen. Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte wiederum mit Hilfe von Varianz-Analysen und zwar wurde im vorliegenden Falle das Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddeln und dasjenige der Farbstoff+Hyase-Quaddeln getrennt betrachtet. Dies war notwendig, da die beiden Quaddeltypen sich bei dem vorliegenden Versuch extrem verschieden verhalten. Den Varianz-Analysen selber liegt wieder ein lineares statistisches Modell zugrunde, in dem einmal die individuelle Reaktionslage der Probanden und zum anderen die Wirkung des Histamins zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches als systematische Faktoren berücksichtigt werden. Dabei wird angenommen, dass diese systematischen Faktoren sich in unabhängiger, additiver Weise überlagern. Die Varianz-Analysen selber sind in der Tabelle 14 für die reine Farbstoff-Quaddel und in der Tabelle 16 für die Farbstoff+Hyase-Quaddel angegeben. Die Bedeutung der verwendeten Abkürzungen ist die gleiche, wie sie bereits weiter oben erläutert wurde.

Als experimentelle Variabilität wurde die biologische Variabilität in der Reaktion der Probanden zugrunde gelegt. Diese kommt in den Varianz-Analysen in Form der Rest-Varianz zum Ausdruck. Im einzelnen ergab sich zunächst für die reine Farbstoff-Quaddel, dass zwischen den einzelnen Zeitpunkten vor und nach Applikation von Histamin keine statistisch gesicherten Unterschiede in der Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel vorliegt. Es kann daher angenommen werden, dass die Applikation von Histamin auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit dieses Quaddeltypus keinen Einfluss ausübt. In der Tabelle 15 ist für jeden Zeitpunkt des Versuches der Mittelwert $\bar{x}$ angegeben, der zu diesem Zeitpunkt für die Ausbreitungsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel bei den einzelnen Probanden be-

- n : Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
 SAQ : Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
 MAQ : Mittleres-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
 $F_{emp.}$: Varianz-Quotient zwischen 2 Varianz-Komponenten;
 p : Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{emp.}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Als erste Frage war zu prüfen, ob die Wechselwirkung Farbstoff - Probanden grösser ist als der experimentelle Fehler, d.h., ob die biologische Variabilität in der Reaktion der Probanden auf die beiden Farbstoffe wesentlich grösser ist als der methodische Fehler. Der hierzu gebildete Varianz-Quotient zwischen den Varianz-Komponenten Farbstoff - Probanden und Bestimmungsfehler zeigt, dass dies tatsächlich der Fall ist. Dies bedeutet, dass innerhalb des gleichen Quaddeltypus der Unterschied in der Ausbreitung der beiden Farbstoffe wesentlich von dem jeweiligen Probanden abhängt, an dem der Vergleich durchgeführt worden ist.

Bei der Prüfung der Frage, ob zwischen den Diffusionsgeschwindigkeiten der beiden Farbstoffe statistisch gesicherte Unterschiede vorliegen, musste das soeben besprochene Ergebnis berücksichtigt werden. Dies bedeutet, dass nur solche Unterschiede in den Diffusionsgeschwindigkeiten als statistisch gesichert gelten können, die nicht mehr als Folge der biologischen Variabilität in der Reaktion der Probanden angesehen werden können. Es wurde daher für jeden Quaddeltypus einzeln geprüft, ob die Varianz-Komponente, die zu den Unterschieden zwischen den beiden Farbstoffen gehört, statistisch gesichert grösser ist als die Wechselwirkung Farbstoff - Probanden. Die Grösse der zugehörigen Varianz-Quotienten zeigt, dass dies für keinen der beiden Quaddel-Typen der Fall ist. Dies bedeutet, dass die Unterschiede in den Ausbreitungsgeschwindigkeiten der beiden Farbstoffe durchaus noch als Folge der biologischen Variabilität in der Reaktion der Probanden erklärt werden kann. Es sollte jedoch nicht übersehen werden, dass bei der geringen Anzahl von Probanden, die zu diesem Versuch herangezogen wurden, und der verhältnismässig grossen Wechselwirkung Farbstoff - Probanden nur sehr grosse Unterschiede hätten statistisch gesichert werden können. Es ist immerhin bemerkenswert, dass bei der Farbstoff-Hyase-Quaddel bei der Anwendung von Patentblau die Quaddeln systematisch grösser werden als bei der Anwendung von Evansblau. Bei der reinen Farbstoff-Quaddeln dagegen sind teilweise diejenigen mit Evansblau, teilweise diejenigen mit Patentblau grösser. Im Mittel sind jedoch auch bei den reinen Farbstoff-Quaddeln diejenigen mit Patentblau grösser als diejenigen mit Evansblau.

Zusammenfassend kann das Ergebnis des Versuches dahingehend interpretiert werden, dass zwar keine statistisch gesicherten Unterschiede in der Ausbreitungsgeschwindigkeit der beiden Farbstoffe vorliegen, dass aber das Gesamtergebnis darauf hinweist, dass die Ausbreitungsgeschwindigkeit der mit Patentblau durchgeführten Quaddeln etwas grösser ist als diejenige der mit Evansblau durchgeführten Quaddeln. Da dieser Effekt nicht gleichmässig ist, insbesondere da dieser Effekt bei der

reinen Farbstoff-Quaddel nicht systematisch ist, können bei dem Vergleich von Versuchen, die einerseits mit Evansblau, andererseits mit Patentblau durchgeführt wurden, gewisse Divergenzen auftreten. Nach den Ergebnissen des vorliegenden Versuches können diese jedoch nie grösser sein, als diejenigen Schwankungen, die bereits als Folge der biologischen Variabilität zwischen den Versuchsteilnehmern zu erwarten sind.

VERSUCHSREIHE II:

In den statistisch ausgewerteten Ergebnissen der Versuchsreihe II sollte geprüft werden, in welcher Weise Histamin beim Menschen die Diffusionsgeschwindigkeit einer reinen Farbstoff- bzw. einer Farbstoff+Hyase-Quaddel beeinflusst. Als Farbstoff wurde bei diesen Versuchen Patentblau verwendet. Zu diesen Versuchen wurden 5 Versuchsteilnehmer herangezogen, denen zunächst je eine reine Farbstoff-Quaddel und eine Farbstoff+Hyase-Quaddel gesetzt wurde. Nach Applikation von Histamin bei den Probanden wurden weitere Quaddeln zu den Zeitpunkten 0', 20', 40', 60', 80', 100' nach der Gabe von Histamin gesetzt und zwar wiederum je eine reine Farbstoff-Quaddel und eine Farbstoff+Hyase-Quaddel. 10 Minuten nach dem Setzen der Quaddeln wurde jeweils die Fläche dieser Quaddeln bestimmt und diese Fläche als Mass für die Diffusionsgeschwindigkeit der Quaddeln angesehen. Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte wiederum mit Hilfe von Varianz-Analysen und zwar wurde im vorliegenden Falle das Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddeln und dasjenige der Farbstoff+Hyase-Quaddeln getrennt betrachtet. Dies war notwendig, da die beiden Quaddeltypen sich bei dem vorliegenden Versuch extrem verschieden verhalten. Den Varianz-Analysen selber liegt wieder ein lineares statistisches Modell zugrunde, in dem einmal die individuelle Reaktionslage der Probanden und zum anderen die Wirkung des Histamins zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches als systematische Faktoren berücksichtigt werden. Dabei wird angenommen, dass diese systematischen Faktoren sich in unabhängiger, additiver Weise überlagern. Die Varianz-Analysen selber sind in der Tabelle 14 für die reine Farbstoff-Quaddel und in der Tabelle 16 für die Farbstoff+Hyase-Quaddel angegeben. Die Bedeutung der verwendeten Abkürzungen ist die gleiche, wie sie bereits weiter oben erläutert wurde.

Als experimentelle Variabilität wurde die biologische Variabilität in der Reaktion der Probanden zugrunde gelegt. Diese kommt in den Varianz-Analysen in Form der Rest-Varianz zum Ausdruck. Im einzelnen ergab sich zunächst für die reine Farbstoff-Quaddel, dass zwischen den einzelnen Zeitpunkten vor und nach Applikation von Histamin keine statistisch gesicherten Unterschiede in der Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel vorliegt. Es kann daher angenommen werden, dass die Applikation von Histamin auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit dieses Quaddeltypus keinen Einfluss ausübt. In der Tabelle 15 ist für jeden Zeitpunkt des Versuches der Mittelwert $\bar{x}$ angegeben, der zu diesem Zeitpunkt für die Ausbreitungsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel bei den einzelnen Probanden be-

obachtet wurde, ausserdem die Varianz s^2 zwischen den einzelnen Werten und schliesslich noch die Abweichung $\delta(\bar{x})$ der Mittelwerte zu den Zeitpunkten nach Belastung mit Histamin von dem Mittelwert F_V vor Belastung mit Histamin. Aus der Grösse dieser Abweichungen ist das oben besprochene Ergebnis unmittelbar ersichtlich.

Die zur Prüfung des Verhaltens der Farbstoff+Hyase-Quaddel durchgeführte Varianz-Analyse zeigt, dass hier statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den einzelnen Zeitpunkten des Versuches vorliegen. Die in Tabelle 17 angegebenen Mittelwerte deuten bereits darauf hin, dass bei der Farbstoff+Hyase-Quaddel zunächst nach Gabe von Histamin eine Hemmung ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit auftritt, dass aber im späteren Verlaufe des Versuches die Ausbreitungsgeschwindigkeit nach Applikation von Histamin grösser wird als vor Applikation von Histamin. Eine genauere statistische Analyse zeigt, dass die Farbstoff+Hyase-Quaddel zunächst stetig bis zum Zeitpunkt 40' p.i. abnimmt, wobei zu den Zeitpunkten 20' und 40' eine statistisch gesicherte Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit feststellbar ist. Nach dem Zeitpunkt 40' nimmt die Grösse der Farbstoff+Hyase-Quaddel wieder stetig zu, zum Zeitpunkt 60' hat sie annähernd den Ausgangswert erreicht, zu den Zeitpunkten 80' und 100' p.i. ist sie wesentlich grösser als der Ausgangswert. Diese Vergrösserung der Farbstoff+Hyase-Quaddel zu den Zeitpunkten 80' und 100' gegenüber dem Ausgangswert konnte ebenfalls statistisch gesichert werden. Die Irrtumswahrscheinlichkeiten, mit denen die statistischen Aussagen behaftet sind, wurden in der Tabelle 3 in der Spalte Sicherung angegeben, soweit diese Irrtumswahrscheinlichkeiten nicht grösser als 5 % sind.

DISKUSSION

Die Ergebnisse der Versuchsreihe I zeigten, dass die Patentblau- und die Patentblau+Hyaluronidase-Quaddeln im Mittel eine etwas grössere Ausbreitung der Farbflecke im Vergleich zu den Evansblau- und Evansblau+Hyaluronidase-Quaddeln ergaben. Die Differenz beträgt bei den Farbstoff-Quaddeln 3, 33 qmm, bei den Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln 7, 34 qmm im Mittel. Bei den mit Evansblau gesetzten Quaddeln fand sich eine Differenz zwischen Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln von 31, 33 qmm, bei den mit Patentblau gesetzten Quaddeln eine solche von 35, 34 qmm. Diese Differenzen der Ergebnisse zwischen Patentblau-Quaddeln und Evansblau-Quaddeln sind nicht erheblich und spielen für die gesamte Methodik keine Rolle. Damit war die Möglichkeit gegeben, das Patentblau für den Spreading-Test anzuwenden. Das mit maximal 4 Tagen ausserordentlich rasche Verschwinden aus der menschlichen Haut bildet den entscheidenden Vorteil bei der Anwendung dieses Farbstoffes.

Nachdem KONTIS (16) die hemmende Wirkung des Histamins auf das Hyaluronidase-Spreading bereits im Rattenversuch nachgewiesen hat, wurde in der vorge-

legten Arbeit unter Verwendung des Patentblaus der Versuch beim Menschen wiederholt. Es zeigte sich, dass das Histamin in der Dosierung von 0,01 mg pro kg Körpergewicht eine deutlich hemmende Wirkung auf das Hyaluronidase-Spreading mit einem Maximum bei 40' p.i. ausübt. Die Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddeln erfährt dabei keine wesentliche Änderung.

Die prinzipielle Übertragbarkeit der Tierversuche auf den Menschen zeigten die Versuche von MATHIES und WEISS 14), und MATHIES und VOGEL 13), die mit Anwendung des Evansblaus die tierexperimentellen Untersuchungen der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Adrenalins und des Noradrenalins (MATHIES, GLÜCK, PAULANTZAS und SCHMIDT 9)) und des Phenylbutazons (MATHIES, BIECHELE und HARTMANN 17)) auch beim Menschen bestätigen konnten.

Die Ergebnisse der vorgelegten Arbeit beweisen darüber hinaus, dass das Patentblau wegen der raschen Resorbierbarkeit einen geeigneteren Farbstoff für Versuche am Menschen darstellt.

ZUSAMMENFASSUNG

Nachdem sich verschiedene Stoffe (Prontosil, Rinderhämoglobin und hämolyisiertes Eigenblut), die als Farbstoffe für den Spreading-Test versucht worden sind, sich als unbrauchbar erwiesen haben, wurde von WEISS und VOGEL das schon in Tierversuchen verwendete Evansblau auch beim Menschen angewandt. Da dieses jedoch den grossen Nachteil hat, dass es nicht resorbiert wird, sondern über Monate in der Haut sichtbar bleibt, wurde in dieser Arbeit das Patentblau auf folgende Eigenschaften untersucht:

- 1) Die Verträglichkeit in der menschlichen Haut ist gut. Es war hier kein Unterschied zum Evansblau festzustellen.
- 2) Die Elimination aus der Haut vollzog sich innerhalb von 2 bis 4 Tagen.
- 3) Hinsichtlich der Brauchbarkeit für den Spreading-Test war festzustellen, dass sich die reinen Farbstoffflecken von Evansblau und Patentblau in ihrer Grösse wenig unterscheiden, sich die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln bei Anwendung von Patentblau jedoch etwas stärker ausbreiteten als bei Verwendung von Evansblau. Die Differenz spielt aber für die gesamte Methodik keine Rolle. Andererseits zeigten sich in der Grösse der Farbstoffflecken von Patentblau ebenso wie von Evansblau individuelle Unterschiede.
- 4) Es wurde gezeigt, dass die hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins auch bei Verwendung von Patentblau + Hyaluronidase deutlich sichtbar wird und zwar am stärksten 40' nach der subcutanen Injektion.

TABELLENANHANG

	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
Evansblau:	70 qmm	90 qmm
	68	88
	70	92
	70	92
Patentblau:	70	100
	72	95
	70	98
	72	95

TABELLE 1
(Versuchsreihe I, Versuchsperson 1)

	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
Evansblau:	80 qmm	100 qmm
	82	102
	80	102
	78	100
Patentblau:	90	108
	92	110
	90	112
	90	112

TABELLE 2
(Versuchsreihe I, Versuchsperson 2)

	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
Evansblau:	75 qmm	98 qmm
	78	98
	78	92
	78	95
Patentblau:	75	112
	72	110
	75	108
	72	110

TABELLE 3
(Versuchsreihe I, Versuchsperson 3)

	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
Evansblau:	78 qmm	106 qmm
	75	102
	79	105
	75	105
Patentblau:	88	125
	85	120
	85	125
	85	122

TABELLE 4
(Versuchsreihe I, Versuchsperson 4)

	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
Evansblau:	100 qmm	140 qmm
	98	138
	95	135
	95	135
Patentblau:	100	148
	97	150
	100	150
	102	145

TABELLE 5
(Versuchsreihe I, Versuchsperson 5)

	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
Evansblau:	100 qmm	160 qmm
	102	158
	98	155
	102	160
Patentblau:	100	140
	95	145
	95	145
	100	142

TABELLE 6
(Versuchsreihe I, Versuchsperson 6)

Zeit	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
leer	90 qmm	120 qmm
0'	92	118
20'	90	105
40'	88	90
60'	88	100
80'	90	130
100'	88	155

TABELLE 7
(Versuchsreihe II, Versuchsperson 7)

Zeit	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyalurinodase-Q.
leer	80 qmm	120 qmm
0'	80	115
20'	82	95
40'	80	85
60'	80	100
80'	85	135
100'	82	155

TABELLE 8
(Versuchsreihe II, Versuchsperson 8)

Zeit	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyalurinodase-Q.
leer	80 qmm	120 qmm
0'	80	120
20'	80	90
40'	78	80
60'	80	135
80'	85	140
100'	82	125

TABELLE 9
(Versuchsreihe II, Versuchsperson 9)

Zeit	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
leer	75 qmm	115 qmm
0'	75	112
20'	72	90
40'	72	80
60'	77	125
80'	75	140
100'	75	120

TABELLE 10
(Versuchsreihe II, Versuchsperson 10)

Zeit	Farbstoff-Q.	Farbstoff+Hyaluronidase-Q.
leer	70 qmm	115 qmm
0'	72	118
20'	70	110
40'	70	78
60'	70	115
80'	75	148
100'	75	120

TABELLE 11
(Versuchsreihe II, Versuchsperson 11)

Vergleich Patentblau-Evansblau

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Probanden innerh. Quaddel-Typen	10	26.836° 77	2.683° 68	15° 26	0° 1 %
Zwischen Quaddel-Typen	1	26.633° 34	26.633° 34	100° 00	0° 1 %
Farbstoffe innerh. F-Quaddel	1	96° 33	96° 33	15° 26	0° 1 %
Farbstoffe innerh. H-Quaddel	1	667° 52	667° 52	3° 80	-
Farbstoffe - Probanden	10	1.758° 28	175° 83	43° 20	0° 1 %
Zwischen Probanden u. Farbstoff.	23	55.992° 24	2.434° 44		
Bestimmungsfehler	72	293° 25	4° 07		
Gesamt - Varianz	95	56.285° 49	592° 48		

TABELLE 12

Mittelwerte

Reine Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase-Quaddel	
Evansblau	Patentblau	Evansblau	Patentblau
69	71	91	97
80	91	101	111
77	74	96	110
77	86	105	123
97	100	137	148
100	98	158	143

TABELLE 13

Vergleich Histamin-Patentblau

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Probanden	4	1.327° 03	331° 76	100° 00	0° 1 %
Zwischen Stufen	6	58° 74	9° 79	3° 98	1° 0 %
Zwischen Kontrolle u. Zeiten	1	1° 54	1° 54	-	
Rest-Varianz	24	58° 97	2° 46		
Gesamt - Varianz	34	1.444° 74	42° 49		

TABELLE 14

	$\bar{x}$	s^2	$\delta(\bar{x})$
F _v	79	55° 00	
	80	58° 25	+ 1
F _{20'}	79	65° 25	0
F _{40'}	78	50° 75	- 1
F _{60'}	79	42° 00	0
F _{80'}	82	45° 00	+ 2
F _{100'}	80	30° 25	+ 1

TABELLE 15

Vergleich Histamin-Patentblau

Farbstoff+Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Probanden	4	102°40	25°60	-	
Zwischen Stufen	6	11.535°37	1.922°56	16°07	0°1 %
Zw. Kontrolle u. V. -Zeiten	1	58°67	58°67	-	
Zw. 90' und restl. Vers. -Zeiten	1	6.029°34	6.029°34	50°40	0°1 %
Zw. Vers. -Zeiten 80' und 100'	1	32°40	32°40	-	
Zw. (80', 100') u. (0', 20', 60')	1	4.352°43	4.352°43	36°38	0°1 %
Zw. (0', 20') u. 60'	1	1.062°53	1.062°53	8°88	1°0 %
Rest - Varianz	24	2.871°20	119°63		
Gesamt - Varianz	34	14.508°97	426°73		

TABELLE 16

	$\bar{x}$	s^2	- ($\bar{x}$)	Sicherung
H _v	118	7°50		
H _{0'}	117	9°75	- 1	-
H _{20'}	98	82°50	- 20	1°0 %
H _{40'}	83	23°75	- 35	0°1 %
H _{60'}	115	237°50	- 3	-
H _{80'}	139	44°75	+ 21	1°0 %
H _{100'}	135	337°50	+ 17	1°0 %

TABELLE 17

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Mathies, H. : Klin. Wschr. 35, 1676 (1957)
- 2) Mathies, H. : Ärztl. Forschung XII, I/87 (1958)
- 3) Mathies, H. : Arzneimittelforschung 8, 233 (1958)
- 4) Mathies, H. und v. Werther, G. : Zschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 5) Mathies, H. : Med. Mschr. 12, 685 (1958)
- 6) Mathies, H. : Zschr. ges. exper. Med. 131, 118 (1959)
- 7) Mathies, H. : Zschr. Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
- 8) Mathies, H. und v. Werther, G. : Arzneimittelforschung 9, 576 (1959)
- 9) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J., Schmidt, D. : Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 10) Mathies, H. : Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 11) Mathies, H. und Gareissen, G. : Med. Klin. 55, 190 (1960)
- 12) Madinaveitia, J. : Biochem. I, 32 (1938) 1806
- 13) Mathies, H. und Vogel, M. : Zschr. ges. exper. Med. im Druck
- 14) Mathies, H. und Weiss, G. : In Vorbereitung
- 15) Weiss, G. : Diss. München, im Druck
- 16) Kontis, N. : Diss. München, in Vorbereitung
- 17) Mathies, H., Biechele, J. und Hartmann, M. : 14, I/160 (1960)

Ich danke Herrn Prof. W. Seitz für die Überlassung des
Themas und Herrn Dr. Mathies für die Unterstützung bei
der Abfassung der Arbeit und Herrn Dipl. math. K. Liebrich
für die Durchführung der statistischen Berechnungen.
Das Patentblau wurde freundlicherweise von den Farbwer-
ken Hoechst zur Verfügung gestellt.

L E B E N S L A U F

Am 8. August 1934 wurde ich als Tochter des Revierförsters Alfons Endeke und seiner Frau Paula geb. Ruez in Neukirch Kreis Rottweil geboren. Ich besuchte 4 Jahre die Volksschule in Neukirch und trat dann in die Mädchen-Oberschule in Rottweil ein. Nach dem Umzug meiner Eltern nach Scheer 1947 besuchte ich das Marienlyzeum in Sigmaringen und nach der 6. Klasse die Oberschule in Riedlingen. 1953 zogen meine Eltern nach Ravensburg. Ich trat in das dortige Mädchen-Gymnasium ein, wo ich im März 1955 die Reifeprüfung ablegte. Im Herbst 1955 begann ich mein Medizinstudium. Ich studierte 6 Semester in Tübingen, 1 Semester in Wien und 4 Semester an der Universität München, wo ich im Sommer 1961 die Ärztliche Prüfung ablegte.

